



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類 G01N 33/48, 33/68, 33/53</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/22235</p> <p>(43) 国際公開日 1999年5月6日(06.05.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/01470</p> <p>(22) 国際出願日 1998年3月31日(31.03.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/292982 1997年10月24日(24.10.97)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 塩野義製薬株式会社(SHIONOGI &amp; CO., LTD.)[JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番8号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 清水洋行(SHIMIZU, Hiroyuki)[JP/JP] 〒653-0843 兵庫県神戸市長田区御屋敷通3-1-2-709 Hyogo, (JP) 浅田英久(ASADA, Hidehisa)[JP/JP] 〒569-1042 大阪府高槻市南平台5-23-5 Osaka, (JP) 遠藤三朗(ENDO, Kazuaki)[JP/JP] 〒569-1042 大阪府高槻市南平台3-5-18 Osaka, (JP)</p>	<p>(74) 代理人 弁理士 山内秀晃(YAMAUCHI, Hideaki) 〒553-0002 大阪府大阪市福島区鷺洲5丁目12番4号 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54)Title: METHOD FOR INHIBITING DECOMPOSITION OF NATRIURETIC PEPTIDES AND IMPROVED METHOD FOR ASSAYING NATRIURETIC PEPTIDES WITH THE USE OF THE SAME</p> <p>(54)発明の名称 ナトリウム利尿ペプチドの分解抑制方法および該方法を用いた改良されたナトリウム利尿ペプチド測定方法</p> <p>(57) Abstract A method for inhibiting the decomposition of mammalian natriuretic peptides, in particular, BNP by using containers wherein the face coming into contact with specimens is made of a material capable of inhibiting the activation of a substance decomposing peptides. This method makes it possible to stably and conveniently collect specimens for assaying natriuretic peptides. Also provided is a method for assaying natriuretic peptides by using these containers.</p>		

(57)要約

検体接触面がペプチド分解物質の活性化を抑制する物質からなる容器を用いた哺乳類のナトリウム利尿ペプチド、特にBNPの分解抑制方法が提供される。本発明によればナトリウム利尿ペプチド測定用検体の安定で簡便な採取が可能となる。

さらに、該容器を用いたナトリウム利尿ペプチド測定方法が提供される。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	ES スペイン	LJ リヒテンシュタイン	SG シンガポール
AL アルバニア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SI スロヴェニア
AM アルメニア	FR フランス	LR リベリア	SK スロヴァキア
AT オーストリア	GA ガボン	LS レント	SL シエラ・レオネ
AU オーストラリア	GB 英国	LT リトアニア	SN セネガル
AZ アゼルバイジャン	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SZ スワジランド
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE グルジア	LV ラトヴィア	TD チャード
BB バルバドス	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BE ベルギー	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BF ブルキナ・ファソ	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BG ブルガリア	GW ギニア・ビサウ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BJ ベナン	GR ギリシャ	共和国	TT トリニダード・トバゴ
BR ブラジル	HR クロアチア	ML マリ	UA ウクライナ
BY ベラルーシ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UG ウガンダ
CA カナダ	ID インドネシア	MR モーリタニア	US 米国
CF 中央アフリカ	IE アイルランド	MW マラウイ	UZ ウズベキスタン
CG コンゴ	IL イスラエル	MX メキシコ	VN ヴイエトナム
CH スイス	IN インド	NE ニジェール	YU ユーゴスラビア
CJ コートジボアール	IS アイスランド	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CM カメルーン	IT イタリア	NO ノルウェー	ZW ジンバブエ
CN 中国	JT 日本	NZ ニュー・ジーランド	
CU キューバ	KE ケニア	PL ポーランド	
CY キプロス	KG キルギスタン	PT ポルトガル	
CZ チェッコ	KP 北朝鮮	RO ルーマニア	
DE ドイツ	KR 韓国	RU ロシア	
DK デンマーク	KZ カザフスタン	SD スーダン	
EE エストニア	LC セントルシア	SE スウェーデン	

## 明 細 書

ナトリウム利尿ペプチドの分解抑制方法および該方法を用いた改良されたナトリウム利尿ペプチド測定方法

## 技術分野

本発明は、ナトリウム利尿ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用いた該ペプチド分解抑制方法および該容器を用いた該ペプチドの測定、分析、採取、保存に関する。

## 背景技術

ナトリウム利尿ペプチドファミリーは、少なくとも心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）、脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）およびC型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）の3種類から形成されている。CNPは主に血管内皮から分泌される血管増殖調節ペプチドであるのに対し、ANPおよびBNPは、主として心臓で生合成され、分泌される心臓ホルモンである。それらのペプチドは前駆体として生合成され、成熟型としてヒトにおいてはANPは28アミノ酸からなる $\alpha$ -ANP、BNPは32アミノ酸からなる $\alpha$ -BNP、CNPは22アミノ酸からペプチドがそれぞれ形成される。

ナトリウム利尿ペプチドは様々な疾患により血液中に分泌されるが、ANPの分泌は心房の負荷により亢進されること、BNPは心室への負荷で生合成、分泌が亢進されることから心機能の変化を反映しており、共に心疾患、特に心不全の診断指標として用いられている。現在、ANPとして $\alpha$ -ANPを、BNPとして $\alpha$ -BNPをそれぞれ免疫測定法により血中濃度を測定し、その測定値を診断指標としている。

しかし、 $\alpha$ -ANPおよび $\alpha$ -BNPは採血後、血中のプロテアーゼによる分解を受け易く、極めて不安定であることから、検体の採取方法、保存方法並びに測定までの時間が測定結果に大きく影響する。そこで、正確な測定を行うために

、アプロチニン等の分解抑制剤を添加したり、検体を低温に保つなどの操作が行われているが、これらは煩雑であったり、過度の負担を強いているものであり、かつ完全なものではなかった。

#### 発明の開示

ナトリウム利尿ペプチドは採血後、血中に存在するプロテアーゼなどのペプチド分解物質により分解されると推測されている。従来、血液試料中にプロテアーゼインヒビターなどのペプチド分解物質阻害剤を添加し、ナトリウム利尿ペプチドの分解を抑制していたが完全には分解を抑制できなかった。ガラス製容器に検体を採取すると、陰性電荷を有するガラスなどの固相により凝固因子が活性化によりプロテアーゼなどのペプチド分解物質が活性化され、ナトリウム利尿ペプチドを分解していると推測し、ガラス製容器の検体接触面をシリコンでコートしたものをを用いて検体を採取したところ、ペプチド分解物質によるナトリウム利尿ペプチドの分解が抑制される成績を得た。

本発明者らはナトリウム利尿ペプチドの測定において、検体接触面をシリコンでコートすることにより、プロテアーゼなどのペプチド分解物質によるナトリウム利尿ペプチドの分解が有意に抑制されることを見出した。

一方、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンおよびアクリル樹脂などのプラスチック容器を用いた場合にもナトリウム利尿ペプチドの分解が抑制されることを見出した。

このことから、哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質からなる容器を用いることにより、該検体中の該ペプチドの分解が抑制されと考えられる。従って、ナトリウム利尿ペプチドを測定するために、検体接触面が少なくともガラス製でない検体採取容器を用いることは、従来の煩雑な検体処理が不要にすると考えられる。また、ナトリウム利尿ペプチドは心疾患の診断マーカーとして用いられていることから、これらの簡便な検体採取方法は心疾患の正確な診断に寄与し得ると考えられる。

本発明は哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質からなる容器を用いることにより、該検体中の該ペプチド分解抑制方法を確立し、該方法を用いた改良されたナトリウム利尿ペプチドの測定方法で測定した結果を基礎とする。

即ち、本発明は哺乳類のナトリウム利尿ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質、好ましくはシリコンまたはプラスチックからなる材料を検体接触面に用いた容器を用いた該ペプチド分解抑制方法に関する。

哺乳類のナトリウム利尿ペプチドとは少なくともANPおよびBNPを包含しており、各々の前駆体および誘導体を意味する。その理由は、生体中には成熟型のみならず $\gamma$ -ANPおよび $\gamma$ -BNP等の前駆体、さらにその誘導体が存在するからである(BBRC, 214(3), (1995))。また、哺乳類とはナトリウム利尿ペプチドが存在するあらゆる哺乳類を意味し、該ペプチドが存在する種としてヒト、イヌ、ブタ、ラットおよびマウスが知られている。

「検体の操作」とは、採取・保存・測定等の検体を取り扱うあらゆる手段を意味する。

「ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質」とは、採取した検体中に含まれるプロテアーゼなどのペプチド分解物質の活性化を抑制する物質で、少なくとも検体採取容器の検体接触面を構成できる物質を意味し、シリコンおよびプラスチック、好ましくはポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリアミド、アクリル樹脂などを意味する。例えば、市販されているシリコンとしてシリコナイズL-25(ファイコン)があり、該シリコンを用いて当業者既知の方法でガラス製およびポリエチレン製などの一般に用いられている容器をコートすることが可能である。

「容器」とは、検体採取容器、保存容器、測定容器などのあらゆる容器を意味し、例えば、分解抑制物質で製造またはコートした、好ましくはシリコンまたはプラスチックで製造またはコートした容器を意味する。

測定検体は生体試料ならいつでもよく、全血または血漿が好ましい。

本発明はアプロチニンを含んでいない検体中のナトリウム利尿ペプチドの測定

に関する。

アプロチニンとはナトリウム利尿ペプチドのプロテアーゼなどのペプチド分解物質による分解・活性化を抑制するために検体中に添加されていたが、アプロチニンを含有しても、生体試料中に存在するペプチド分解物質およびその活性化物質を全て抑制することができないためである。

また、本発明は哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定方法であって、本発明のナトリウム利尿ペプチド分解抑制方法を含む該ペプチドの測定方法に関する。

ナトリウム利尿ペプチドの測定は生物活性測定方法、液体クロマトグラフィー法または免疫測定方法等を用いることができる。免疫測定方法としては競合法、サンドイッチ法のいずれでもよく、当業者既知の方法で行うことができる。或いは、市販の $\alpha$ -ANP測定キット「シオノリアANP」（塩野義製薬）または $\alpha$ -BNP測定キット「シオノリアBNP」（塩野義製薬）を用いて測定が可能である。

さらに本発明は、哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定のためのキットであって、該ペプチド測定用検体の採取および測定方法において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用い、該検体中の該ペプチドの分解抑制方法を含むキットに関する。

#### 図面の簡単な説明

図1はガラス製試験管またはシリコンコートしたガラス製試験管中に25℃で保存した時の保存時間と、各種BNP測定方法で測定したBNP様物質の残存活性との関係を示すグラフ。

図2はシリコンコートしたまたはしていないポリエチレンテレフタレート製試験管ならびにガラス製試験管中に25℃で保存した時の保存期間と、BNP様物質の残存活性との関係を示すグラフ。

図3はシリコンコートしたまたはしていないガラス製試験管およびポリスチレン、ポリプロピレン、強化ポリエチレン、アクリル樹脂の各種プラスチック製試験管中に25℃で24時間保存した時のBNP様物質の残存活性を示すグラフ。

## 実施例

次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例にのみ限定されるものではない。

### 実施例 1

#### ガラス製試験管を用いたBNPの測定

(1) シリコンコートしたガラス製試験管の製造：市販のガラス製試験管（テルモ）を精製水で1回洗浄し、3%（v/v）シリコン溶液（シリコナイズL-25：ファイコン社）で3回洗浄を行った。その後、再度精製水で1回洗浄し、300℃で90分間乾燥した。

(2) 測定用検体の調製：健常者からEDTA採血管（1.5mg/ml EDTA・2Na）に静脈血を採取した。採血した血液にヒト $\alpha$ -BNP（ペプチド研究所）を最終濃度が200pg/mlになるよう添加し、検体とした。

(3) IRMA法によるBNP測定：検体をシリコンコートしていないガラス製試験管およびシリコンコートしたガラス製試験管に各々分注後、室温（25℃）にて0、2、6、24時間放置した。その後、検体を4℃、 $\times 2000g$ 、5分間の遠心分離（コクサン：H-107GA）により血球分離を行い、-80℃で保存した後、BNPの免疫活性を「シオノリアBNPキット」（塩野義製薬）で測定した。

即ち、各測定検体および各種標準物質（ $\alpha$ -BNP溶液；0、4、10、150、600、2000pg/ml）をシオノギチューブ（ポリスチレン製：塩野義製薬）にそれぞれ100 $\mu$ l分注し、ヨウ化抗BNP抗体溶液を200 $\mu$ l添加し、抗BNP抗体固相ポリスチレンビーズを1個加えて攪拌後、4℃で18時間反応した。2mlの洗浄液で2回洗浄を行った後、放射活性を $\gamma$ -カウンターARC-600（アロカ社）で測定した。得られた結果を図1に示す。

ガラス製試験管（図1、■）を用いた場合、24時間放置するとBNP残存活

性率が約20%であるのに対し、シリコンコートしたガラス製試験管（図1、□）を用いた場合、24時間放置してもBNPの残存活性率は約80%と活性が保持され、ペプチド分解物質の活性が抑制された。

図1は検体採取容器の検体接触面をシリコンコートすることによりナトリウム利尿ペプチドの分解物質の活性が抑制できることを示している。

## 実施例2

### ポリエチレンテレフタレート（PET）製試験管を用いたBNPの測定

（1）シリコンコートしたPET製試験管の製造：市販されているPET製試験管（テルモ社）を精製水で1回洗浄し、3%（v/v）シリコン溶液（シリコナイズL-25：ファイコン社）で3回洗浄を行った。その後、再度精製水で1回洗浄し、乾燥した。

（2）測定用検体の調製：健常者からEDTA採血管（1.5mg/ml EDTA・2Na）に静脈血50mlを採取した。採取した血液に $\alpha$ -BNP（ペプチド研究所）を最終濃度が200pg/mlになるよう添加し、検体とした。

（3）IRMA法によるBNPの測定：検体をシリコンコートしたPET製試験管およびガラス製試験管ならびにシリコンコートしていないPET製およびガラス製試験管に各々分注後、室温（25℃）にて0、1、6、24、72時間放置した。その後、検体を4℃、 $\times 2000g$ 、5分間の遠心分離（コクサン：H-107GA）により血球分離を行い、-80℃で保存した後、血漿検体中のBNP免疫活性を「シオノリアBNPキット」（塩野義製薬）で測定した。測定方法は実施例1と同様に行った。

その結果、図2に示すようにシリコンコートしたガラス試験管（図2、□）と同様に、PET製試験管を用いると、シリコンコート有（図2、○）、無（図2、●）に関わらず、24時間放置した場合でもBNP残存活性率は共に約80%と分解物質の活性が抑制された。しかし、シリコンコートしていないガラス試験管（■）では24時間放置するとBNP残存活性率は0%となった。



## 実施例 3

## プラスチック試験管を用いたBNPの測定

検体保存用容器としてガラス製試験管、シリコンコートしたガラス製試験管およびプラスチック試験管としてポリスチレン製（塩野義製薬）、ポリプロピレン製A、ポリプロピレン製B、強化ポリエチレン製、アクリル樹脂製の5種類を使用した。

## (1) IRMA法によるBNPの測定

上記各種プラスチック試験管およびガラス製試験管（シリコンコートしたものおよびしていないもの）に各々分注後、室温（25℃）にて0、24時間放置した。その後、検体を4℃、×2000g、5分間の遠心分離（コクサン：H-107GA）により血球分離を行い、得られた血漿検体を-80℃で保存した後、血漿検体中のBNP免疫活性を「シオノリアBNP」キット（塩野義製薬）で測定した。測定方法は実施例1と同様に行った。

シリコンコートしたガラス製試験管（図3、レーン2）と同様にポリスチレン製、ポリプロピレン製A、ポリプロピレン製B、強化ポリエチレン製、アクリル樹脂製（図3、レーン3、4、5、6、7）の5種類のプラスチック試験管いずれを用いた場合においてもBNP残存活性率は50%以上を示し、ペプチド分解活性が抑制された。しかし、ガラス製試験管（図3、レーン1）ではBNP残存活性率は0%であった。

BNPはガラス製試験管ではプロテアーゼなどによるペプチド分解物質の分解を受け、残存活性率に顕著な減少が見られるが、シリコンコートを施すことにより、残存活性率の減少を抑えることができた。さらに、ポリエチレンテレフタレート、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンおよびアクリル樹脂などのプラスチック製試験管はシリコンコートを施していないにもかかわらず、残存活性率の減少が抑えられ、プロテアーゼなどのペプチド分解物質の活性が抑制されることが明らかとなった。

**発明の効果**

本発明の検体接触面がペプチド分解物質の活性化を抑制する物質で構成された容器を用いることによるペプチド分解物質の抑制方法は、測定検体の採取法、保存法、および測定までの時間による影響を受けることなく、安定で、信頼性のある臨床データを提供する。

また、採血試料に煩雑な処理を施すことなく測定することができるので、経済的で、簡便かつ安定な信頼性のある臨床データを提供し、心疾患の正確な診断に貢献し得る。

## 請 求 の 範 囲

1. 哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用いることを特徴とする、該検体中の該ペプチド分解抑制方法。
2. ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質がシリコンまたはプラスチックである請求項1記載の方法。
3. 哺乳類がヒト、イヌ、ブタ、ラットおよびマウスである請求項1または2記載の方法。
4. ナトリウム利尿ペプチドがBNPである請求項1から3までのいずれかに記載の方法。
5. 該検体がアプロチニンを含んでいない検体である請求項1から4記載の方法。
6. 請求項1記載の方法を含む、哺乳類のナトリウム利尿ペプチドの測定方法。
7. 哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定のためのキットであって、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用いることを特徴とする該ペプチド測定キット。
8. 該検体がアプロチニンを含んでいない検体である請求項7記載のキット。

図 1

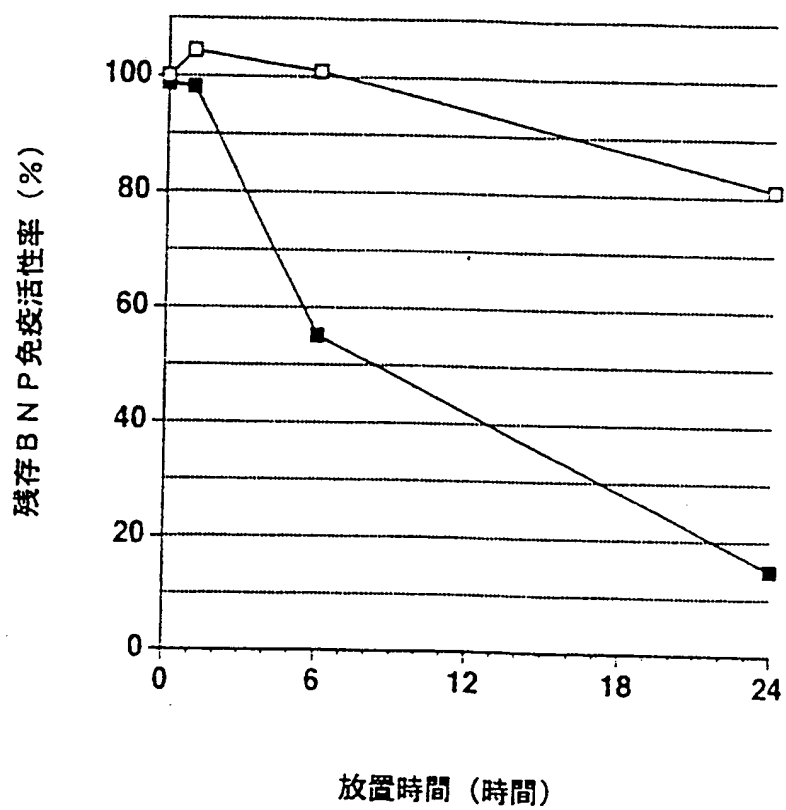


図 2

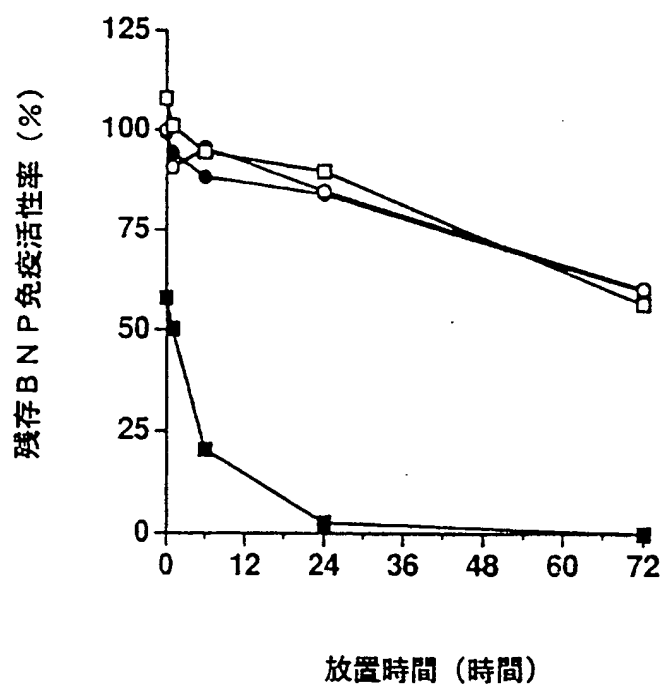
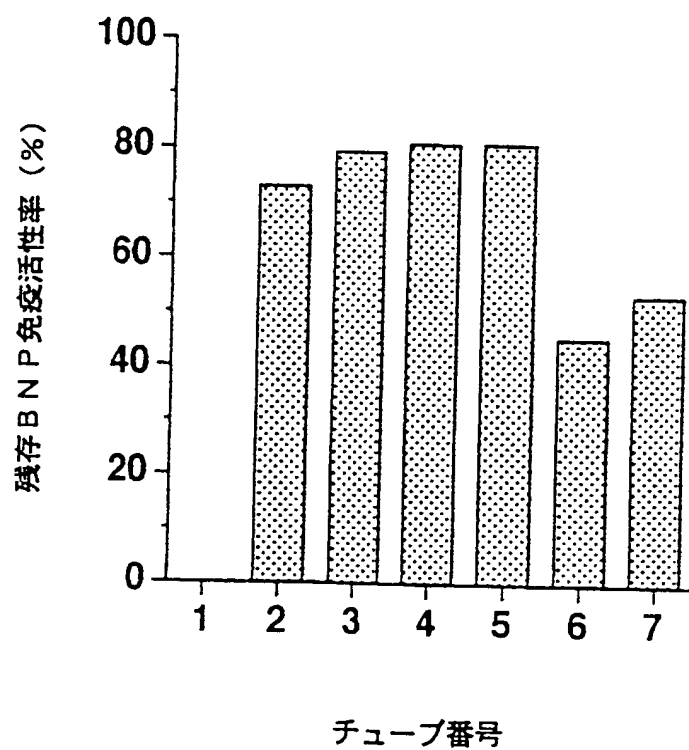


図 3



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/01470

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>6</sup> G01N33/48, 33/68, 33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>6</sup> G01N33/48, 33/68, 33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1998

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1998 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1998

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSYS PREVIEWS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p.1627-1633	1, 3, 5-8 4 2
Y	Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 161, No. 3 (1989) p.1177-1183	4
A	Pharmacology & Toxicology Vol. 68, No. 4 (1991) p.276-281	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
June 9, 1998 (09. 06. 98)

Date of mailing of the international search report  
June 23, 1998 (23. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> G01N33/48, 33/68, 33/53

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>8</sup> G01N33/48, 33/68, 33/53

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-1998年

日本国登録実用新案公報 1994-1998年

日本国実用新案登録公報 1996-1998年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSYS PREVIEWS

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p. 1627-1633	1, 3, 5-8 4 2
Y	Biochemical and Biophysical Reserch Communications, Vol. 161, No. 3(1989)p. 1177-1183	4
A	Pharmacology & Toxicology Vol. 68, No. 4, (1991) p. 276-281	1-8

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.06.98

国際調査報告の発送日

23.06.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

山村祥子

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

2J 9217